

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representation of
The original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭57-50894

⑬ Int. Cl.³
C 12 P 7/62
A 61 K 31/215
/(C 12 P 7/62
C 12 R 1/465)
(C 12 P 7/62
C 12 R 1/645)

識別記号 庁内整理番号
ADN 6760-4B
6408-4C

⑭ 公開 昭和57年(1982)3月25日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 13 頁)

⑮ ML-236B誘導体の製造法

⑯ 特 願 昭55-124385
⑰ 出 願 昭55(1980)9月8日
⑱ 発 明 者 寺原昭
東京都品川区広町1丁目2番58
号三共株式会社醗酵研究所内

⑲ 発 明 者 田中実
東京都品川区広町1丁目2番58
号三共株式会社中央研究所内
⑳ 出 願 人 三共株式会社
東京都中央区日本橋本町3丁目
1番地の6
㉑ 代 理 人 弁理士 櫻出庄治

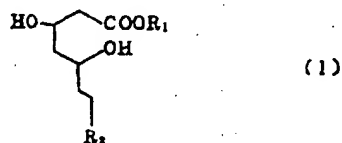
明 細 書

1. 発明の名称

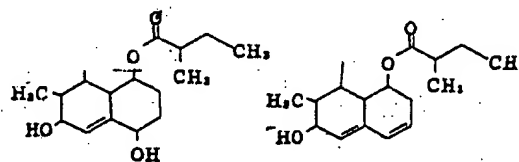
ML-236B誘導体の製造法

2. 特許請求の範囲

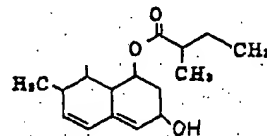
ML-236Bを式(1)で示されるML-236B誘導体に変換し得るアブシグイア属、カニンガメラ属、シンセファロスガラム属またはストレプトマイセス属に属する微生物を、ML-236Bを含有する培地で培養するか、或いはこれらの微生物の酵素抽出液と接触せしめて、ML-236Bを式



(式中、R₁は水素原子、低級アルキル基またはアルカリ金属を示し、R₂は基



または

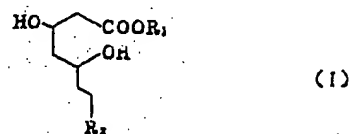


を示す。)で示され

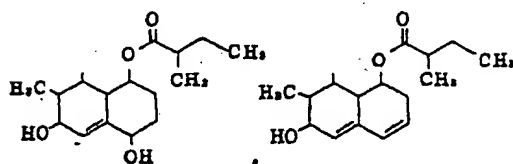
るML-236B誘導体もしくはこの閉鎖ラクトン体に変換せしめ、培養物より該ML-236B誘導体を選択することを特徴とするML-236B誘導体の製造法。

3. 発明の詳細な説明

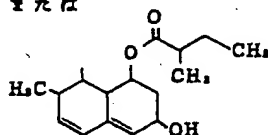
本発明は微生物の作用によりML-236Bを変換して式



て示されるML-236B誘導体もしくはこの閉鎖ラクトン体を製造する方法に関するものである。上記式中、 R_1 は水素原子；メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチルなどの低級アルキル基；ナトリウム、カリウムなどのアルカリ金属を示す。 R_2 は基



または



を示す。

前記一般式(1)を有する化合物はコレステロールの合成を阻害することにより、血中の脂質を低下させる作用を有し、例えば高脂血症治療剤、動脈硬化予防薬として医薬に使用すること

て示される物質をIso DUM-4と略称する。

DUM-3はML-236Bの化学変換生成物として(特願昭55-53057)。またDUM-4は動物に対するML-236B投与実験中にその代謝産物として(特願昭55-76127)。本出願人の研究室で既に分離されていたものである。

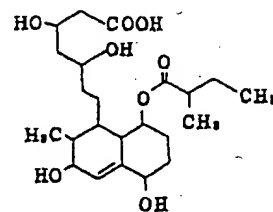
前記式(1)で示される物質はいずれもコレステロール合成阻害作用を有するが、特にDUM-4のコレステロール合成阻害作用は顕著であり、ML-236Bの10倍以上の阻害作用を示す。しかしながら、DUM-4はML-236Bを投与した動物の代謝産物としてのみ得られていたものであり、量産性に乏しく、従つて本物質の経済的な生産方法を検討していたところ、微生物の作用により、ML-236Bを式(1)を有する物質に変換せしめ得ることを見出し、本発明を完成した。

ML-236B自体は既知物質であり、青カビの一種ベニシリウム・チトリヌムの代謝産物より分離、精製された物質で、式(II)に示される

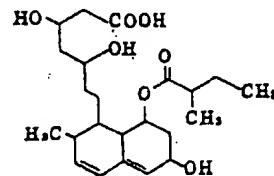
が出来る。

前記式(1)で示される物質の中、

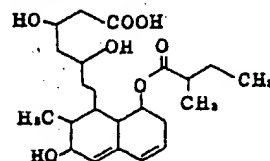
式



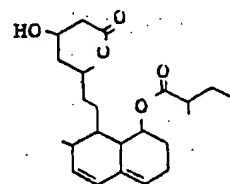
て示される物質をDUM-3と略称し、式



て示される物質をDUM-4と略称し、式



化学構造を有しており、実験動物から分離した酵母系や培養細胞系においてコレステロールの生合成をその律速酵素の3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル・コエンザイムAリダクターゼと競合することにより阻害し、動物の個体レベルにおいても強力な血清コレステロールの低下作用を示すことが知られている(特開昭50-155690号、ジャーナル・オブ・アンチバイオティクス 29巻 1346-1348頁 1976年)。



(I)

ML-236Bを前記式(1)で示される物質に変換せしめ得る微生物としてはアブシディア(Absidia)属、カニングハメラ(Cunninghamella)属、シンセファロスボラム(Syncephalosporum)属およびストレプトマイセス(Streptomyces)

属に属するML-236B変換菌があげられる。

これらに属する微生物の中、特に

アブシディア・コエルレア IFO 4423

(*Absidia coerulea*)

カニングハメラ・エチヌラータ IFO 4445

(*Cunninghamella echinulata*)

シンセファロスボラム・ラセモサム IFO 4814

(*Synecephalosporum racemosum*)

シンセファロスボラム・ラセモサム IFO 4828

(*Synecephalosporum racemosum*)

ストレプトマイセス・ロゼオクロモゲナス NRRL 1233

(*Streptomyces roseochromogenus*)

ストレプトマイセス・ロゼオクロモゲナス IFO 3363

(*Streptomyces roseochromogenus*)

ストレプトマイセス・ロゼオクロモゲナス IFO 3411

(*Streptomyces roseochromogenus*)

ストレプトマイセス・ハルステディ IFO 3199

(*Streptomyces halstedii*)

ストレプトマイセス・プラテンシス NRRL 2364

(*Streptomyces platensis*)

ストレプトマイセス・ファルビシマヌ NRRL B-1453

(*Streptomyces fulvissimus*)

が好適である。

本発明において好適に用いられる微生物は、公的な菌保存機関(IFOまたはNRRL)より入手可能である。

ML-236Bを前記式(I)で示される物質に変換せしめるには、微生物菌体はもちろん、場合によってはこれらの微生物の無細胞抽出液をML-236Bと接触せしめることによっても達成される。

この場合、微生物培養では培養条件によつて

式(I)を有する化合物はカルボン酸型およびラクトン型或いはアルカリ金属塩として生成する。また休止菌体系および無細胞抽出液ではアルカリ金属塩として得られる。

次に実施例を示す。

実施例1

下記組成の培地100mlを含有する500ml容坂口フラスコ20本にアブシディア・コエルレア IFO 4423を接種し、26℃、120rpmで振盪培養し、2日後、ML-236B Na塩を最終濃度で0.05%になるように添加して更に5日間26℃、120rpmで培養する。

培地組成

グルコース	2.0%
K ₂ HPO ₄	0.15
Mg SO ₄ · 7H ₂ O	0.15
NH ₄ NO ₃	0.1
ペプトン	0.1
C. S. L	0.2
イーストエキストラクト	0.1

ZnSO₄ · 7H₂O

0.001

水道水

残

(pH 7.0 に調整)

培養終了後、変換反応液をろ過し、母液をトリフルオロ酢酸でpH3に調整した。次いで、1Lの酢酸エチルで3回抽出するとDUM-3, DUM-4及びIso DUM-4を含む区分が得られる。この中、DUM-3区分は薄層クロマトグラフィー(TLC)(プレート:メルク社製シリカゲル Art 5715 溶媒:ベンゼン:アセトン:酢酸=50:50:3)によりR_f値0.2を示す。DUM-3区分の抽出液を飽和食塩溶液で洗浄し、抽出液を減圧乾固してラクトンを得た。残渣をローバー・カラム(メルク社製RP-8 サイズA)を用い、25%アセトニトリルで溶出し、DUM-3のラクトン体として385mgを得た。

DUM-3ラクトンの特性値

1) 融点: 63~67℃

- 2) 質量分析値 (M^+): 424 ($C_{22}H_{26}O_7$)
- 3) 紫外部吸収スペクトル (メタノール):
末端吸収のみ
- 4) 赤外部吸収スペクトル (KBr) $\nu_{\max} \text{ cm}^{-1}$:
3300, 1720
- 5) NMR スペクトル ($CDCl_3$) δ ppm:
5.9 (1H, 二重二重線, $J=1.5$, 5 Hz)
5.5 (1H, 多重線)
4.3 (2H, 多重線)
3.9 (1H, 二重二重線, $J=3$, 5 Hz)

実施例 2

実施例 1 に示したのと同組成の培地 100ml を含有する 500ml 容 坂口フラスコ 20 本にアブソグリア・コエルレブ IFO 4423 を接種し、26℃, 120 rpm で振盪培養し、2 日後、ML-136 B Na 塩を最終濃度で 0.05% になるように添加して更に 5 日間 26℃, 120 rpm で培養する。

培養終了後、交換反応液を通過し、伊液をトリフルオロ酢酸で pH 3 に調整した。次いで、1% の酢酸エチルで 3 回抽出すると DUM-3、

のアルキルエステルが得られる。Iso DUM-4 メチルエステルは次の特性を有する。

- 1) NMR スペクトル
重クロロホルム中、内部標準に TMS を使用して、100 MHz で測定した NMR スペクトルを図 1 図に示す。
- 2) マススペクトル
N, O-ビス (トリメチルシリル) トリフルオロアセトアミドでシリル化した後、日本電子製 D-300 型を用いて測定した。
 M^+ : 654 (M^+), 552, 462, 372, 272, 233, 231
- 3) 紫外部吸収スペクトル (メタノール溶液)
 $\lambda_{\max} (\text{nm})$: 229, 234.8, 244.5
- 4) 赤外部吸収スペクトル (薄膜法)
第 2 図に示す。
- 5) TLC
TLC プレート: メルク社製シリカゲル Art 5715
溶媒: ベンゼン: アセトン (1:1)

Iso DUM-4 および DUM-4 を含む区分が得られる。この中、Iso DUM-4 と DUM-4 は双方共薄層クロマトグラフィー (TLC) (プレート: メルク社製シリカゲル Art 5715 溶媒: ベンゼン: アセトン: 酢酸 = 50:50:3) により R_f 値 0.45 を示す。上記抽出液を飽和食塩溶液で洗浄し、ジアゾメタンのエーテル溶液を加え、30 分放置後、減圧乾固した。残渣をローバー・カラム (メルク社製 SI 60, サイズ A) にかけて、ベンゼン: 酢酸エチル = 1:1 の系で精製すると Iso DUM-4 メチルエステルを含む区分 (活性区分①) と DUM-4 メチルエステルを含む区分 (活性区分②) に分けられる。活性区分①は 200mg が得られた。活性区分①をローバー・カラム (メルク社製 RP-8 サイズ A) を用い、35% アセトニトリルで溶出し、Iso DUM-4 メチルエステルの精製標品 78mg が無色油状体として得られた。なお本操作におけるジアゾメタンに代えて、適当なジアゾアルカンを使用すると該当する Iso DUM-4

R_f 値 0.88

実施例 3

実施例 1 に示したのと同組成の培地 100ml を含有する 500ml 容 坂口フラスコ 20 本にアブソグリア・コエルレブ IFO 4423 を接種し、26℃, 120 rpm で振盪培養し、2 日後、ML-136 B Na 塩を最終濃度で 0.05% になるように添加して更に 5 日間 26℃, 120 rpm で培養する。

培養終了後、交換反応液を通過し、伊液をトリフルオロ酢酸で pH 3 に調整した。次いで、1% の酢酸エチルで 3 回抽出すると DUM-3 と DUM-4 と Iso DUM-4 を含む区分が得られる。この中、DUM-4 と Iso DUM-4 は双方共薄層クロマトグラフィー (TLC) (プレート: メルク社製シリカゲル Art 5715 溶媒: ベンゼン: アセトン: 酢酸 = 50:50:3) により R_f 値 0.45 を示す。上記抽出液を飽和食塩溶液で洗浄し、ジアゾメタンのエーテル溶液を加え、30 分放置後、減圧乾固した。残渣をローバー・カラム (メルク社製 SI 60, サイズ A) をかけて、ベンゼン: 酢酸エチル = 1:1 の系で精製すると DUM-4 と Iso DUM-4 を含む区分 (活性区分①) と DUM-3 を含む区分 (活性区分②) に分けられる。活性区分①は 200mg が得られた。活性区分①をローバー・カラム (メルク社製 RP-8 サイズ A) を用い、35% アセトニトリルで溶出し、Iso DUM-4 メチルエステルの精製標品 78mg が無色油状体として得られた。なお本操作におけるジアゾメタンに代えて、適当なジアゾアルカンを使用すると該当する Iso DUM-4

ズA)にかけ、ベンゼン：酢酸エチル＝1：1の系で精製するとIsa DUM-4メチルエステルを含む区分(活性区分①)とDUM-4メチルエステルを含む区分(活性区分②)に分けられる。活性区分②は185.3 μ が得られた。活性区分②をローバー・カラム(メルク社製RP-8, サイズA)を用い、35%アセトニトリルで溶出し、DUM-4メチルエステルの精製微品20 μ が無色油状体として得られた。なお本操作におけるジアゾメタンに代えて、適当なジアゾアルカンを使用すると該当するDUM-4のアルキルエステルが得られる。

DUM-4メチルエステルは次の特性を有する。

1) NMRスペクトル

重クロロホルム中内部基準にTMSを使用し、200 MHzで測定した。

(CDCl₃) δ ppm :

0.88 (3 H, t, J = 7.3 Hz)

0.89 (3 H, d, J = 6.5 Hz)

1.12 (3 H, d, J = 6.8 Hz)

$\lambda_{\max}(\text{nm})$: 230.1, 273.3, 246.4

4) 赤外部吸収スペクトル(薄膜法) cm^{-1} :

3400, 2950, 1730

5) TLC

TLCプレート：メルク社製シリカゲル

Art 5715

溶媒：ベンゼン：アセトン(1：1)

R_f値：0.88

実施例4

カニンガマラ・エチスラータ IFO 4445を用い、実施例1と同様に操作してDUM-3ラクトンを得た。

実施例5

シンセファロスボラム・ラセモーサム IFO 4828を用い、実施例1と同様に操作してDUM-3ラクトンを得た。

実施例6

シンセファロスボラム・ラセモーサム IFO 4814を用い、実施例1と同様に操作してDUM-3ラクトンを得た。

1.1 ~ 1.7 (10 H, m)

2.34 (1 H, sex, J = 7 Hz)

2.3 ~ 2.5 (2 H, m)

2.49 (2 H, d, J = 6.4 Hz)

2.58 (1 H, m)

3.72 (3 H, s)

3.78 (1 H, m)

4.25 (1 H, quin, J = 7 Hz)

4.4 (1 H, m)

5.42 (1 H, m)

5.56 (1 H, m)

5.90 (1 H, d, d, J = 9.8, 5.6 Hz)

5.99 (1 H, d, J = 9.8 Hz)

2) マススペクトル

N, O-ビス(トリメチルシリル)トリフルオロアセトアミドでシリル化した後、日本電子製D-300型を用いて測定した。

M_r : 654 (M⁺), 552, 462, 372,

290, 272, 233, 231

3) 紫外外部吸収スペクトル(エタノール溶液)

実施例7

ストレプトマイセス・ロゼオクロモグナス NRRL 1233を用い、実施例1と同様に操作してDUM-3ラクトンを得た。

実施例8

ストレプトマイセス・ロゼオクロモグナス IFO 3363を用い、実施例1と同様に操作してDUM-3ラクトンを得た。

実施例9

ストレプトマイセス・ロゼオクロモグナス IFO 3411を用いて、実施例1と同様に処理してDUM-3ラクトンを得た。

実施例10

ストレプトマイセス・ヘルスタダイ IFO 3199を用い、実施例1と同様に処理してDUM-3ラクトンを得た。

実施例11

ストレプトマイセス・プラテンシス NRRL 2364を用い、実施例1と同様に操作してDUM-3ラクトンを得た。

実施例 12

ストレプトマイセス・ファルビシマス NRRL B-1453を用い、実施例1と同様に操作してDUM-3ラクトンを得た。

実施例 13

アブンディア・コエルリア IFO 4423を用いて実施例2と同様に操作して、ML-286Bの交換反応液1.9Lを得た。母液をトリフルオロ酢酸でpH 3.0に調整した。次いで、1Lの酢酸エチルで3回抽出するとDUM-3とIso DUM-4とDUM-4を含む区分が得られる。上記抽出液を飽和食塩水で洗浄し、濃縮乾燥してラクトンを得た。残渣をローバー・カラム(メルク社製 SI 60 サイズA)にかけ、Iso DUM-4ラクトン区分とDUM-4ラクトン区分を分離採取した。Iso DUM-4ラクトン区分をベンゼン：酢酸エチル(1:1)の系で精製し、Iso DUM-4ラクトン 198mgが得られた。更にこれをローバー・カラム(メルク社製 RP-8 サイズA)を用い、35%アセトニトリルで

シンセファロスボラム・ラセモーサム IFO 4828を用い、実施例13と同様に操作してIso DUM-4ラクトンを得た。

実施例 17

ストレプトマイセス・ロゼオクロモグナス NRRL 1233を用い、実施例13の方法に従ってIso DUM-4ラクトンを得た。

実施例 18

実施例13と同様に操作して、ローバー・カラムで分離したDUM-4区分を同様に精製してDUM-4ラクトンを得た。

DUM-4ラクトンは次の物性値を有する。

1) NMRスペクトル

重クロロホルム中、内部標準にTMSを使用して、60MHzで測定したNMRスペクトルを第5図に示す。

2) 紫外吸収スペクトル(メタノール溶液)

$\lambda_{\max}(\text{nm}) = 230, 236.7, 244.6$

3) 赤外部吸収スペクトル(薄膜法) cm^{-1}

3400, 2950, 1725

溶出し、Iso DUM-4ラクトンの精製標品82mgが得られた。

Iso DUM-4ラクトンは次の特性を有する。

1) NMRスペクトル

重クロロホルム中、内部標準にTMSを使用して100MHzで測定したNMRスペクトルを第3図に示す。

2) 紫外吸収スペクトル(メタノール溶液)

$\lambda_{\max}(\text{nm}) : 229, 234.8, 244.5$

3) 赤外部吸収スペクトル(薄膜法)

第4図に示す。

実施例 14

カニンガメラ・エチヌラマ IFO 4445を用い、実施例13と同様に操作してIso DUM-4ラクトンを得た。

実施例 15

シンセファロスボラム・ラセモーサム IFO 4814を用い、実施例13と同様に操作してIso DUM-4ラクトンを得た。

実施例 16

4) TLC

TLCプレート：メルク社製シリカゲル

Art 5715

溶媒：ベンゼン：アセトン：酢酸 = 50 : 50 : 3

R_f 値 0.62

実施例 19

実施例1と同様に操作して得た酢酸エチル抽出液を飽和食塩溶液で洗浄し、ジアゾメタンのエーテル溶液を加え30分放置後、減圧乾燥した。残渣をローバー・カラム(メルク社製 SI 60 サイズA)にかけ、ベンゼン：酢酸エチル(1:1)の系で精製し、再度ローバー・カラム(メルク社製 RP-8 サイズA)にかけ、35%アセトニトリルで溶出し、DUM-3メチルエステルの精製標品を得た。なお本操作におけるジアゾメタンに代えて適当なジアゾアルカンを使用すると該当するDUM-3のアルキルエステルが得られる。

DUM-3メチルエステルの物性値は次の通り

である。

- 1) 質 量 分 析 (M^+) : 456
- 2) 元 素 分 析 値 : $C_{21}H_{24}O_8$ として
計 算 値 C : 60.53 H : 8.77
実 測 値 C : 61.02 H : 8.90
- 3) 紫 外 吸 収 スペクトル (メタノール溶液)
末 端 吸 収 の み
- 4) 赤 外 吸 収 スペクトル (液膜法)
 $\nu_{max} \text{ cm}^{-1}$: 3300, 1720
- 5) N M R スペクトル ($CDCl_3$) δ ppm :
5.9 (1 H, 二重二重線, $J = 1.5, 5 \text{ Hz}$)
5.3 (1 H, 多重線)
4.2 ~ 3.8 (3 H, 多重線)
3.6 (3 H, 一重線)
2.6 (2 H, 二重線)
- 6) 旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: $+35^\circ$ ($C = 1.02$, メタノール)

実施例 20

下記組成の培地 100 ml を含有する 500 ml 容坂口フラスコ 20 本にアブジイア・コエルレア I F O 4423 を接種し、26℃, 120 rpm で振

盪培養し、2日後、ML-236B Na塩を最終濃度で 0.05 % になるように添加して更に 5 日間 26℃, 120 rpm で培養する。

培地組成

グルコース	2.0 %
Na_2HPO_4	0.15
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.15
NH_4NO_3	0.1
ペプトン	0.1
C.S.L	0.2
イーストエキストラクト	0.1
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.001
水道水	残
(pH 7.0 に調整)	

培養終了後、交換反応液を通過し、母液を HP-20 カラム (三菱化成社製) に吸着させ、水洗後、50 % アセトンで DUM-4 ナトリウム塩、Iso DUM-4 ナトリウム塩および DUM-3 ナトリウム塩を含有する区分を溶出し、凍結乾

燥品 830 mg を得た。これを高速液体クロマトグラフィー (カラム : マイクロボンドパック C_{18} , 40 % メタノール 1 ml/min) によりくり返し精製し、DUM-4 ナトリウム塩、Iso DUM-4 ナトリウム塩を各々 32 mg, 280 mg 得た。DUM-4 ナトリウム塩および Iso DUM-4 ナトリウム塩は次の特性を有する。

DUM-4 ナトリウム塩

- 1) N M R スペクトル
重メタノール中、内部基準に T M S を使用して 200 MHz で測定した。
(CD_3OD) δ ppm :
0.91 (3 H, t, $J = 7.5 \text{ Hz}$)
0.92 (3 H, d, $J = 7 \text{ Hz}$)
1.12 (3 H, d, $J = 7 \text{ Hz}$)
1.1 ~ 1.8 (10 H, m)
2.25 (1 H, d, d, $J = 16, 7.6 \text{ Hz}$)
2.34 (1 H, d, d, $J = 15, 5.5 \text{ Hz}$)
2.2 ~ 2.4 (3 H, m)
2.48 (1 H, m)

- 3.68 (1 H, m)
4.07 (1 H, m)
4.28 (1 H, m)
5.36 (1 H, m)
5.48 (1 H, d, d, $J = 3, 2 \text{ Hz}$)
5.88 (1 H, d, d, $J = 9.6, 5.3 \text{ Hz}$)
5.98 (1 H, d, $J = 9.8 \text{ Hz}$)
- 2) 紫 外 吸 収 スペクトル (メタノール溶液)
 $\lambda_{max} \text{ (nm)}$: 280.0, 237.2, 245.0
- 3) 赤 外 吸 収 スペクトル (KBr 法) cm^{-1} :
3400, 2900, 1725, 1580
- 4) T L C
T L C プレート : メルク社製シリカゲル
Art 5715
溶媒 : ベンゼン : アセトン : 酢酸 (50 : 50 : 3)
 R_f 値 0.46
Iso DUM-4 ナトリウム塩
- 1) 紫 外 吸 収 スペクトル (メタノール溶液)
 $\lambda_{max} \text{ (nm)}$: 229 (sh), 235, 245 (sh)

2) 赤外線吸収スペクトル (KBr 法) cm^{-1}

3400, 2850, 1710, 1580

3) T L C

T L C プレート; メルク社製シリカゲル

Art 5715

溶媒; ベンゼン: アセトン: 酢酸 (50: 50
: 8) R_f 値 0.45

実施例 21

カニンガメラ・エテスラータ IFO 4445
を用い、実施例 3 と同様に操作して DUM-4
メチルエステルを得た。

実施例 22

ストレプトマイセス・ロゼオクロモグナス
NRRL 1233 を用い、実施例 3 と同様に操作し
て DUM-4 メチルエステルを得た。

実施例 23

シンセファロスボラム・ラセモサム IFO
4814 を用い、実施例 3 と同様に操作して DU
M-4 メチルエステルを得た。

実施例 24

シンセファロスボラム・ラセモサム IFO
4828 を用い、実施例 3 と同様に操作して DU
M-4 メチルエステルを得た。

コレステロール合成阻害作用

前記式 (I) で示される化合物はコレステロー
ル合成経路上の律速酵素として知られる 3-ヒ
ドロキシ-3-メチルグルタリル・コエンザイ
ム A リダクターゼ (3-hydroxy-3-methyl-
glutaryl-Co A reductase) を特異的に阻害する
ことが分つた。これら化合物のコレステロール
合成阻害作用 [ジャーナル・オブ・バイオロジ
カル・ケミストリー (J. Biol. Chem.) 234 巻
2835 頁 (1959 年) 記載の方法で測定] を第 1
表に示す。

第 1 表 コレステロール合成を 50%
阻害する濃度

	$\mu\text{g}/\text{ml}$
DUM-3	0.26
DUM-3 ラクトン	0.26
DUM-3 メチルエステル	0.065
DUM-4 メチルエステル	0.001
DUM-4 Na 塩	0.0008
Iso DUM-4 メチルエステル	0.007
Iso DUM-4 ラクトン	0.013
ML-236 B (対照)	0.01

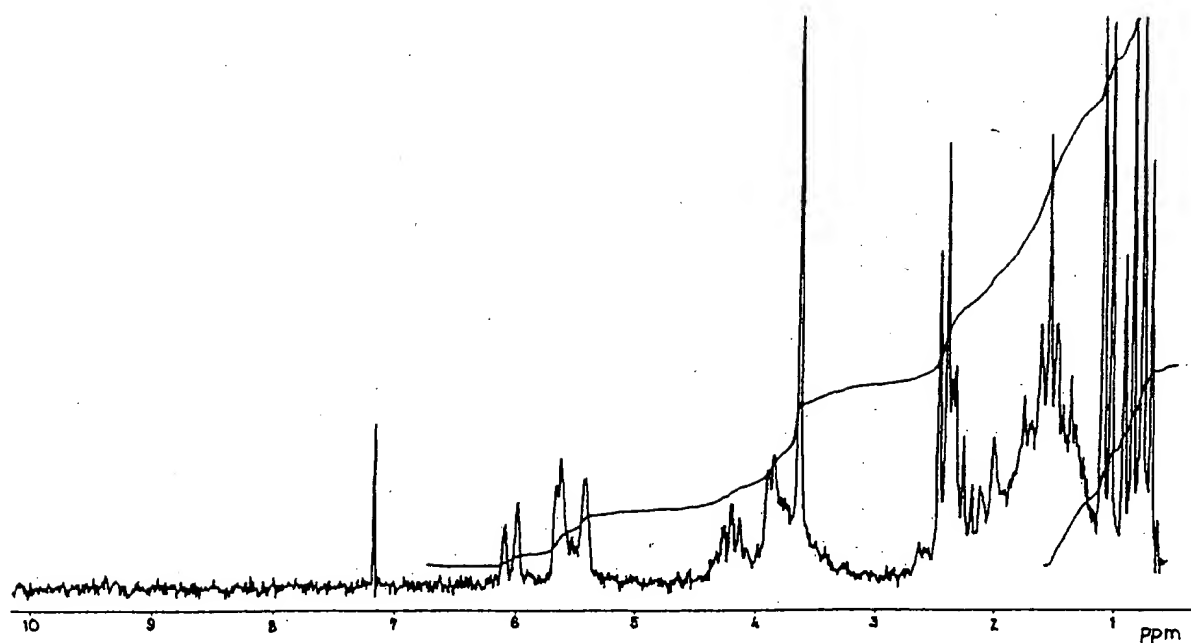
は DUM-4 ラクトンの NMR スペクトルを示
す。

特許出願人 三共株式会社
代理人 弁護士 堀 出 庄 治

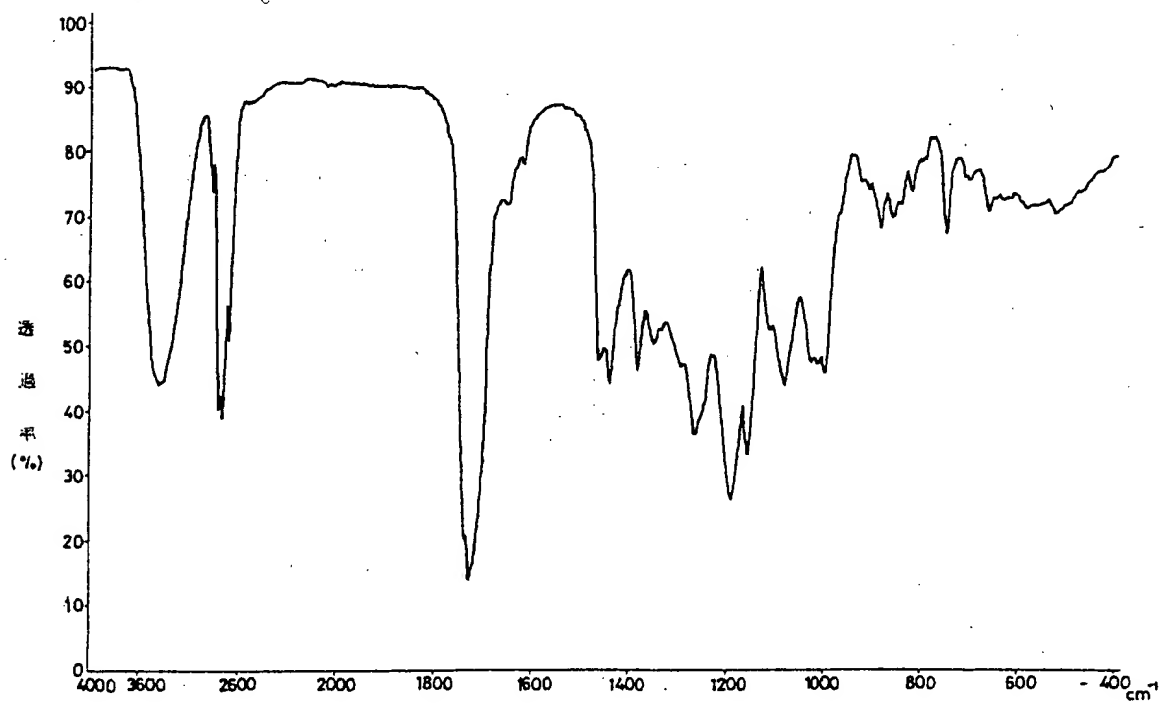
4. 図面の簡単な説明

第 1 図は Iso DUM-4 メチルエステルの N
MR スペクトルを示し、第 2 図は同物質の赤外
吸収スペクトルを示す。第 3 図は Iso DUM-
4 ラクトンの NMR スペクトルを示し、第 4 図
は同物質の赤外吸収スペクトルを示す。第 5 図

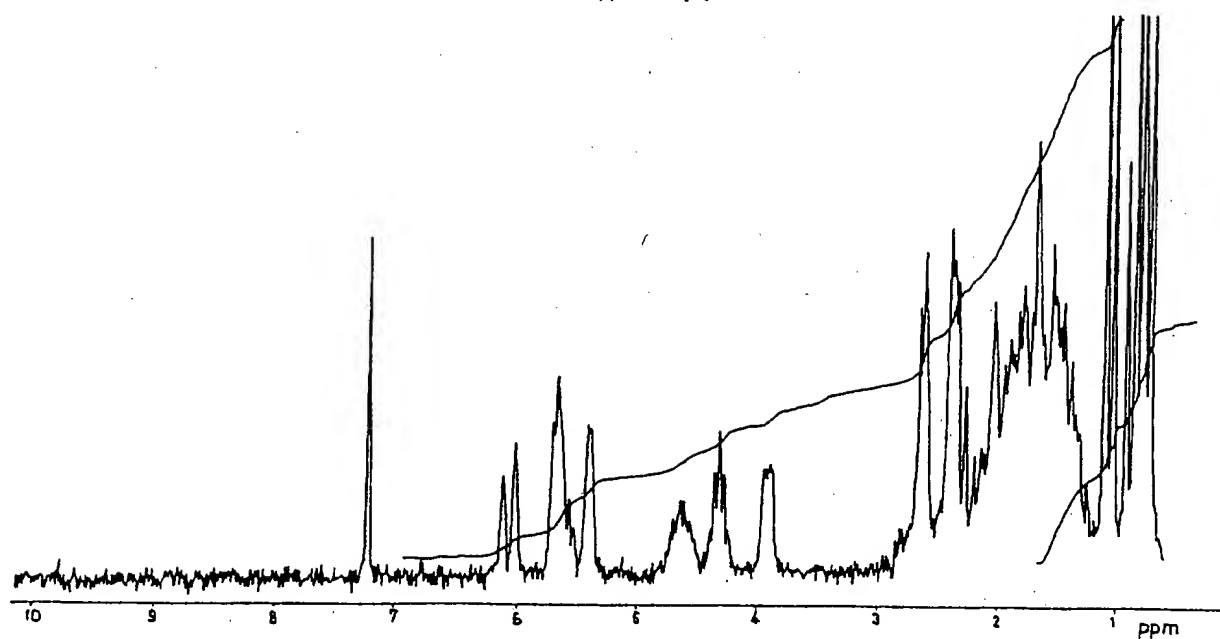
第 1 図



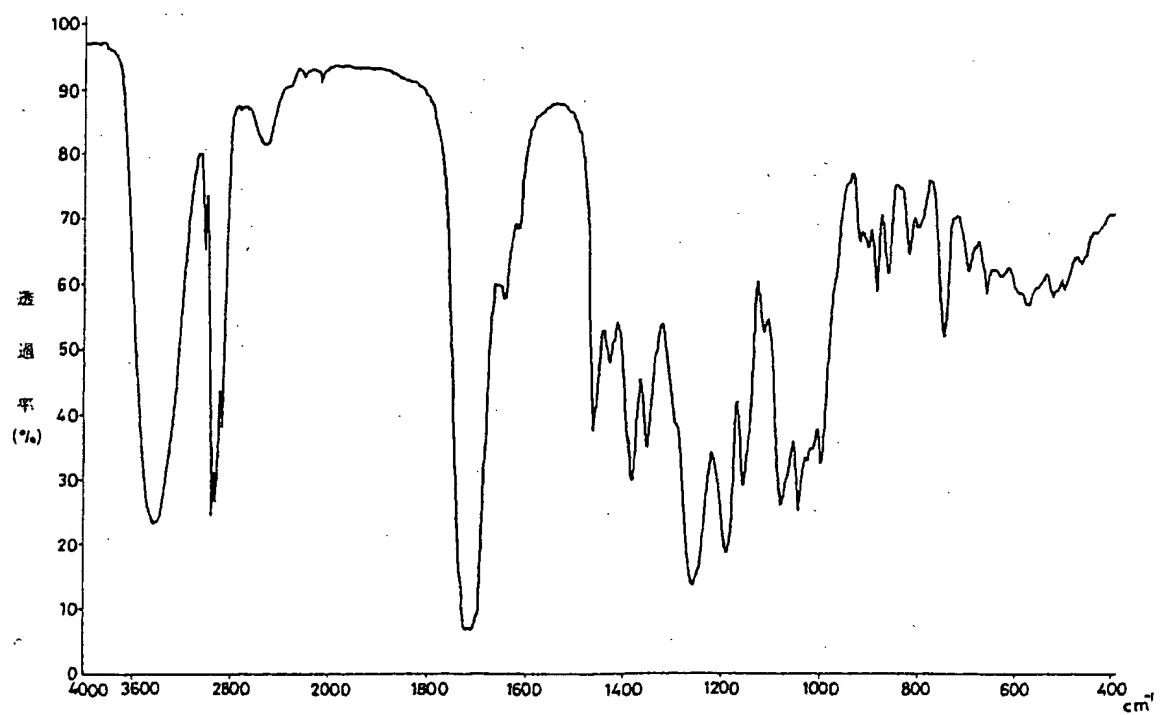
第 2 図



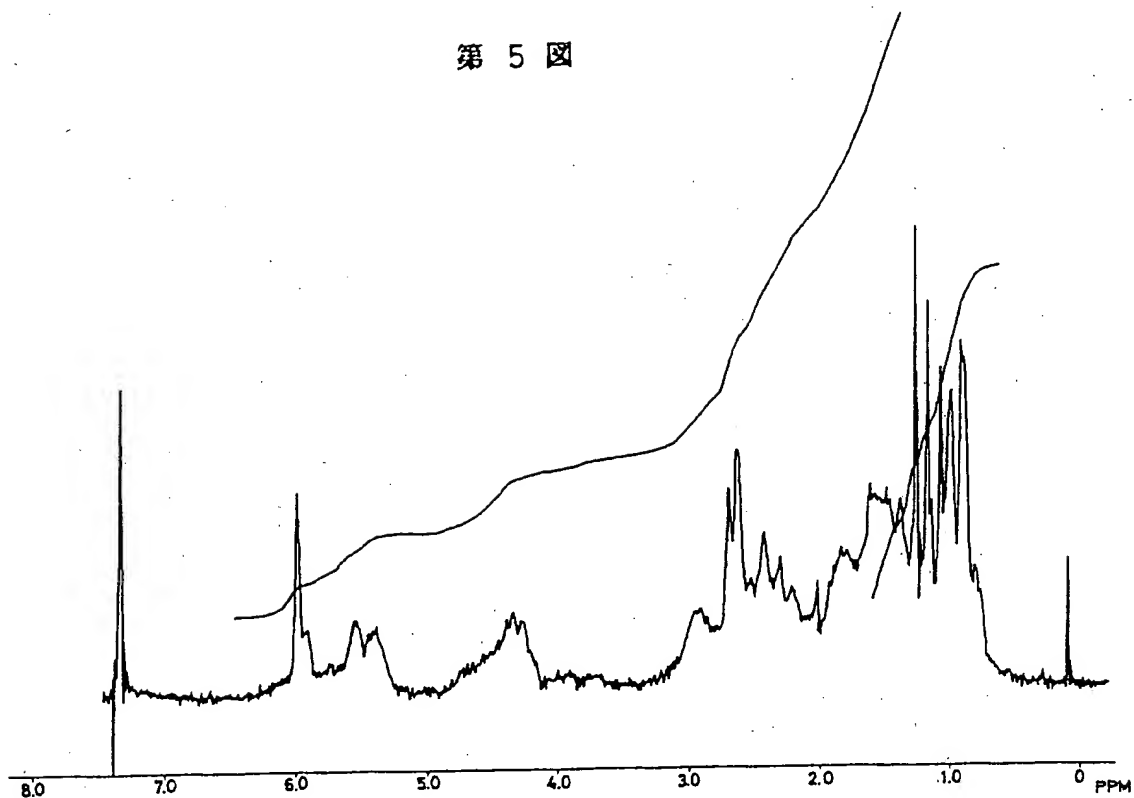
第 3 図



第 4 図



第 5 図



手続補正書（自発）

昭和58年11月25日

特許庁長官 島田 春樹 殿

1. 事件の表示

昭和55年特許願第124385号

2. 発明の名称

ML-236B誘導体の製造法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目1番地の8

名称 (185) 三共株式会社

代表者 取締役社長 河村 喜典

4. 代理人

居所 〒140 東京都品川区広町1丁目2番58号

三共株式会社内

電話 492-3131

氏名 弁理士 (8007) 櫻出 庄治

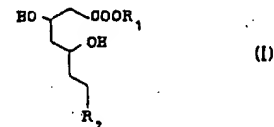
5. 補正により増加する発明の数 なし

6. 補正の対象 明細書の特許請求の範囲の欄、発明の詳細な説明の欄および図面の簡単な説明の欄

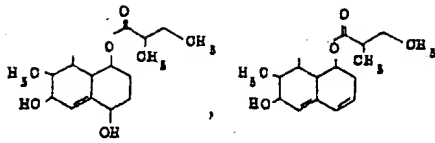
7. 補正の内容 別紙の通り

1. 明細書の特許請求の範囲を次の通り訂正する。

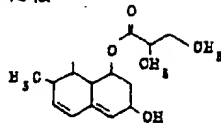
「ML-236Bを式(I)で示されるML-236B誘導体に変換し得るアブシディア属、カニンガメラ属、シジセファラストラム属またはストレプトマイセス属に属する微生物を、ML-236Bを含有する培地で培養するか、或いはこれらの微生物の酵素抽出液とML-236Bを接触せしめて、ML-236Bを式



（式中、R₁は水素原子、低級アルキル基またはアルカリ金属を示し、R₂は基



または



を示す。)で示さ

れるML-238B誘導体もしくはこの閉環ラクトン体に変換せしめ、培養物より該ML-238B誘導体を採取することを特徴とするML-238B誘導体の製造法。」

2. 明細書第8頁下から2行、第7頁7行、同頁10行、第17頁14行、同頁18行、第20頁17行、第21頁1行、第27頁18行および第28頁2行の「シンセツアロスポラム」を「シンセツアラストラム」と訂正する。
3. 同第8頁下から2行、第7頁8行および同頁12行の

「M-3」と訂正する。

7. 同第4頁7行、第5頁3行、同頁8~8行、同頁11行、第10頁7行、第12頁1行、同頁2~3行、同頁12行、第14頁12行、同頁13行、第15頁3行、同頁8行、同頁11行、同頁13行、第18頁11行、同頁15行、第21頁10行、同頁11行、同頁12行、第24頁17行、第25頁4行、同頁8行、同頁8行、第27頁11行、同頁18行、同頁19~20行、第28頁3~4行および第30頁1行の「DUM-4」を「M-4」と訂正する。
8. 同第5頁1行、第10頁7行、第12頁1行、同頁2行、同頁11行、同頁17行、同頁末行、第13頁1~2行、第14頁12行、同頁13行、第15頁2行、第18頁10~11行、同頁14~15行、同頁18行、同頁18行、第20頁1行、同頁3行、同頁14~15行、同頁18~19行、第21頁2~

「Syncephalosporum」を

「Syncephalastrum」と訂正する。

4. 同第8頁8行、同頁12行、第11頁15行、同頁17行、第14頁8行、同頁8行、第28頁末行および第24頁3行の「rpm」を「s.p.m.」と訂正する。

5. 同第17頁1行の

「2733」を

「2373」と訂正する。

6. 同第4頁5行、第5頁2行、第10頁8行、同頁8行、同頁12行、同頁18行、同頁18行、第11頁末行、第14頁11行、第17頁11行、同頁15~18行、同頁19~20行、第18頁4行、同頁8行、同頁12行、同頁15~18行、同頁19~20行、第18頁3~4行、同頁10行、第22頁15行、同頁18行、同頁末行および第24頁18行の「DUM-3」を

3行、同頁7行、第24頁18行、第28頁4行、同頁8行、第28頁13行および同頁15~18行の

「I_{so}DUM-4」を

「イソM-4」と訂正する。

9. 同第28頁18行の

「I_{so}DUM-ナトリウム塩」を

「イソM-4ナトリウム塩」と訂正する。

10. 同第28頁の第1表を次の通り訂正する。

阻害する濃度	
	μg/ml
M-3	0.28
M-3ラクトン	0.28
M-3メチルエステル	0.005
M-4メチルエステル	0.001
M-4Na塩	0.0008
イソM-4メチルエステル	0.007
イソM-4ラクトン	0.013
ML-238B(対照)	0.01

11. 同第1頁8行の

「伊散を」を

「交換反応液を伊通し、伊散を」と訂正する。

12. 同第1頁13～14行の

「抽出液を…… 得た。」を

「硫酸ナトリウムで脱水後、触媒量のトリフルオロ酢酸を添加してラクトン化した。次いで上記抽出液を5%炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで脱水後、減圧乾燥した。」と訂正する。

13. 同第1頁12～13行の

「減圧乾燥してラクトンを得た。」を

「硫酸ナトリウムで脱水後、触媒量のトリフルオロ酢酸を添加してラクトン化した。次いで上記抽出液を5%炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで脱水後、減圧乾燥した。」と訂正する。

14. 同頁14行の

「にかけ」を

「にかけ酢酸エチルで落出し」と訂正する。

以上